Etude ultrastructurale des processus de biodégradation. I. Pourriture blanche des feuilles de Hêtre (*Fagus sylvatica* L.)

O. REISINGER
Laboratoire de Botanique et de Microbiologie, Université de Nancy I, Case officielle 140, 54037 Nancy Cedex, France

F. TOUTAIN
Centre de Pédologie Biologique, C.N.R.S., B.P. 5, 54500 Vandoeuvre-les-Nancy, France

F. MANGENOT ET MARIE-FRANCE ARNOULD
Laboratoire de Botanique et de Microbiologie, Université de Nancy I,
Case officielle 140, 54037 Nancy Cedex, France

Approuvé le 13 mars 1978

REISINGER, O, F. TOUTAIN, F. MANGENOT et MARIE-FRANCE ARNOULD. 1978. Etude ultrastructurale des processus de biodégradation. I. Pourriture blanche des feuilles de Hêtre (*Fagus sylvatica* L.). Can. J. Microbiol. **24**: 725–733.

La pourriture blanche des feuilles de Hêtre, étudiée au microscope électronique, présente, au cours de son développement, un certain nombre d'étapes caractéristiques. Ces étapes sont identiques dans les expérimentations *in vitro* et dans les observations effectuées sur du matériel incubé dans la nature. Les hyphes de l'agent de la pourriture blanche, possédant une aptitude cellulolytique apparemment localisée dans la seule région apicale, ne font que traverser la paroi des cellules végétales. Elles pénètrent ensuite dans les résidus du protoplasme condensé qu'elles rendent progressivement transparents aux électrons. Un facteur létal pour les autres microorganismes installés dans la feuille, apparaît pendant ce processus de décoloration. Sa nature pour le moment reste inconnue. Les faisceaux libéro-ligneux ne présentent pas de modifications ultrastructurales notables. Aussi la décoloration de la feuille est due non pas à une altération des constituants ligneux, mais aux changements intervenus dans les résidus condensés du cytoplasme des tissue morts.

REISINGER, O., F. TOUTAIN, F. MANGENOT, and MARIE-FRANCE ARNOULD. Etude ultrastructurale des processus de biodégradation. I. Pourriture blanche des feuilles de Hêtre (*Fagus sylvatica* L.). Can. J. Microbiol. **24**: 725–733.

An electron microscopic study of beech leaf white rot shows a certain number of characteristic developmental stages which are identical whether the material is from *in vitro* experimentation or from natural incubation. Endowed with a cellulolytic property seemingly localized in the apical region only, hyphae of the white rot agent only traverse the plant cell walls. Subsequently, hyphae penetrate condensed protoplasmic residues and make them progressively transparent to electrons. During this discoloring process, a lethal factor of as yet unknown nature appears, affecting other microorganisms already present in the leaves. Phloem and xylem vascular bundles do not present notable ultrastructural modifications. Therefore, leaf discoloration is not due to an alteration of the xylem constituents but to changes having occurred in the condensed cytoplasmic residues of the dead tissues.

[Translated by the journal]

Introduction

La biodégradation des organes végétaux ou fongiques a déjà été suivie, dans quelques cas, à l'aide des microscopes électroniques (Reisinger 1972; Kilbertus et al. 1973; Reisinger et Kilbertus 1973, 1974; Pierre et al. 1974; Harranger 1975; Olah et al. 1978). Les résultats obtenus ont montré l'importance de telles études pour la connaissance de l'action réelle des microorganismes sur les substrats étudiés; successions et relations microbiennes au sein des microhabitats ont ainsi été précisées. D' ailleurs, certaines des lois ainsi reconnues ont même abouti à des applications pratiques (Reisinger et Fargues 1976; Reisinger et al. 1977).

Mais les études précédentes généralement faites sur du matériel en décomposition *in vitro* ne tiennent pas compte de certains processus étroitement liés au pédoclimat. Dans des conditions définies, ces processus apparaissent à un moment donné de l'année et présentent une évolution plus ou moins régulière au cours du temps. Ils peuvent donc être suivis, grâce à des prélèvements successifs effectués dans la nature. Dans certains cas, ils représentent des systèmes naturels très simplifiés du fait de la dominance d'un mécanisme biochimique ou d'une espèce microbienne.

Il suffit de suivre, par exemple, les transformations morphologiques que subissent les feuilles de

Hêtre qui tombent sur le sol, pour se rendre compte de l'intérêt que peuvent présenter de telles observations microscopiques. Toutain (1974) a montré, à ce sujet, que la transformation de ce type de matériel foliaire en litière était d'abord un phénomène progressif: le contenu des cellules étant en partie entraîné par les eaux de pluie, le reste n'étant que peu à peu biodégradé par la flore bactérienne ou fongique, les litières gardant une couleur brune. Ensuite intervenait une phase de fragmentation par la mésofaune et d'incorporation de ce matériel fragmenté sous forme de boulettes fécales dans l'horizon A_1du sol, ce qui assure un *passage progressif* entre la litière et l'horizon A_1 (*moder*). Mais dans certaines stations (à *mull acide* ou à *mull calcaire*) l'intervention de Basidiomycètes supérieurs tels que Pholiotes, Marasmes, Clitocybes ou Collybies, provoque une transformation rapide du matériel initial à la suite de phénomènes de lyse intense aboutissant à la décoloration des feuilles. Il se créé alors une *discontinuité morphologique* dans la structure, entre la litière et l'horizon A_1 par 'fonte' sur place d'une partie du matériel foliaire. Ces champignons agents de 'pourritures blanches' (Lindeberg 1946; Lehman et al. 1969; Mangenot et Kiffer 1972) décomposent la litière en libérant une forte quantité de substances solubles de nature phénolique (Jacquin 1963; Kichkuth et al. 1969).

Ces modifications morphologiques correspondent à des processus dont nous nous proposons d'étudier le déroulement en microscopie électronique et ceci dans des stations parfaitement connues des points de vue pédologique, floristique et climatique. Nous estimons en effet qu'il est important de connaître les transformations que peuvent subir les produits bruns des feuilles, produits très stables représentant, dans les feuilles de Hêtre, 30 à 40% du matériel organique initial et jouant par leur nature phénolique un rôle essentiel dans l'humification et la pédogenèse.

Matériel et Méthodes

Station

Le matériel foliaire utilisé pour les études ultrastructurales et pour les analyses microbiologiques a été récolté en plaine lorraine dans la hêtraie de Sainte-Marie, près de Château-Salins (Moselle) sur un sol brun acide à mull, formé sur grès rhétien. La station a été décrite par Toutain (1972).

La pluviométrie annuelle y est de l'ordre de 720 mm, la température moyenne de +10.2°C. La strate herbacée est constituée de plantes indicatrices du mull et de quelques espèces plus acidiphiles. La litière a une épaisseur de 1 à 2 cm, elle est constituée de feuilles brunes âgées de 1 à 2 ans surmontant une couche plus claire (à certaines époques, totalement blanchie) de feuilles âgées de plus de 2 ans envahies par des champignons de pourriture blanche et notamment: *Agaricus silvicola* (Vitt.) Sacc., *Collybia butyracea* (Fr. ex Bull.) Quélet, *Clitocybe nebularis* (Fr. ex Batsch) Quélet et *Clitocybe infundibuliformis* (Fr. ex Schaef.) Quélet. Cette couche repose alors directement sur l'horizon A_1.

Microscopie électronique à transmission (MET)

Les feuilles partiellement décolorées ont été recueillies dans la nature pendant les mois de mars et avril 1975; d'autres ont été obtenues *in vitro* en cultivant divers Basidiomycètes sur des feuilles non décolorées et préalablement stérilisées à l'oxyde de propylène. Les échantillons sont prélevés, sur une même feuille, dans la partie brune, la région décolorée et à l'interface de ces deux zones.

Après fixation au tétroxyde d'osmium à 2% pendant 2 h, les échantillons sont déshydratés et inclus dans l'épon. Les coupes fines, sériées, contrastées au citrate de plomb (Reynolds 1963) sont examinées avec un Siemens Elmiskop 101 réglé à 60 ou 80 kV.

Microscopie électronique à balayage (MEB) Des échantillons de même origine que ceux utilisés pour le MET ont été observés au MEB (Caméca 07 no 19) après déshydratation au point critique avec le gaz carbonique (42°C et 1500 psi) et métallisation or–palladium.

Techniques microbiologiques

Pour vérifier l'éventuel effet antimicrobien dans la zone décolorée, nous avons réalisé le protocole suivant.

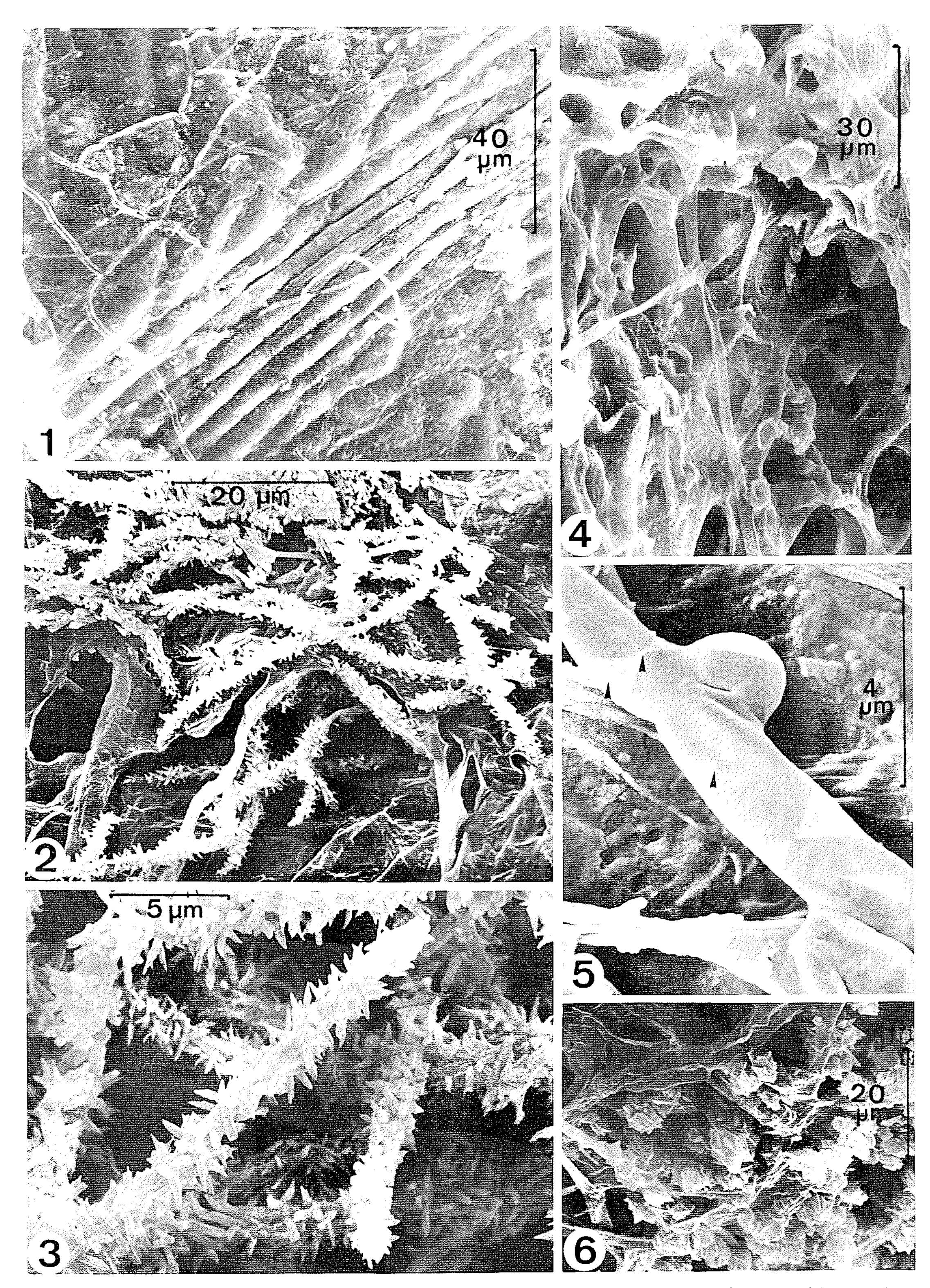
Des feuilles brunes de Hêtre, récoltées au mois d'octobre 1975, sont finement broyées dans l'eau, à raison de 5 g de feuilles par litre. Les fractions passant à travers un tamis à mailles de 2 mm sont recueillies avec le liquide de broyage et le tout est gélosé à 2%. Après stérilisation à l'autoclave, ce milieu hétérogène est réparti en surcouche mince dans des boîtes de Pétri contenant déjà de l'eau gélosée (2%) solidifiée. Les plaques sont ensemencées par repiquage de mycélium isolés de fructifications de Basidiomycètes (en particulier *Collybia butyracea*) récoltés dans la station de Sainte-Marie. Les boîtes ainsi préparées sont incubées à 20°C et à l'obscurité. Avec le développement du mycélium de *Collybia* le milieu sous-jacent, initialement brun, se décolore progressivement. Dès que le diamètre des colonies atteint 3 à 5 cm, la surface totale est inondée par un broyat dans du bouillon de culture (Nutrient Broth Difco) de feuilles fraîchement récoltées et dépourvues de pourriture blanche. Cette suspension contient donc la flore habituelle de la partie brune aux dépens de laquelle se développe la pourriture blanche.

Les résultats sont notés après une nouvelle incubation de 2 à 4 jours.

Résultats et Discussion

Microscopie électronique à balayage

La surface foliaire examinée au MEB présente des altérations plus ou moins profondes (les Figures 1 et 4) dont certaines évoquent des ruptures dues à une action mécanique quelconque (Fig. 4). Un feutrage mycélien de densité variable couvre les zones examinées. Il est composé d'hyphes dont certaines présentent des anses d'anastomose lorsqu'on observe les régions décolorées et les surfaces environnantes (Fig. 5). La présence de ces boucles permet d'affirmer que ces filaments sont des organes végétatifs de Basidiomycètes. Associés aux hyphes (Fig. 5, flèches) ou dispersés sur la cuticule foliaire sans ordre apparent, on rencontre des éléments sphériques ou en bâtonnets, représentant vraisemblablement des bactéries. Ces structures



FIGURES 1–6. Surface des feuilles mortes de la litière (MEB). Fig. 1. Aspect de la surface et réseau mycélien. Partie brune. Figures 2, 3, et 6. Mycélium avec des cristaux. Partie décolorée. Fig. 4. Lésion mécanique et réseau mycélien. Partie brune. Fig. 5. Hyphe de Basidiomycète avec anse d'anastomose caractéristique et particules (flèches) dont la forme évoque celle des bactéries.

semblent néanmoins absentes dans les endroits où les filaments mycéliens s'entourent d'une gaine épaisse de produits cristallisés (les Figures 2, 3, et 6) de structure variable. La nature, l'origine, le rôle et l'effet sur le microenvironnement de ces cristaux sont actuellement à l'étude. Ils sont probablement constitués d'oxalate de calcium (Aho et al. 1976; Cromack et al. 1976).

Microscopie électronique à transmission

A l'exception des endroits où sont concentrées les hyphes engainées de cristaux, l'examen de la surface ne permet donc pas de distinguer des zones nettement différentes. Même le mycélium bouclé peut se rencontrer en dehors de la partie décolorée. L'établissement de la pourriture blanche n'aboutit donc pas à des modifications superficielles décelables au MEB. Il n'en est pas de même au MET où chaque zone d'une feuille incomplètement décolorée présente un aspect ultrastructural particulier. Nous envisagerons successivement le cas des zones brunes, zones intermédiaires et zones décolorées.

Zone brune

Les cellules végétales de cette zone sont caractérisées par la présence de produits condensés et denses aux électrons (Fig. 7). Ces produits amorphes mais plus ou moins fragmentés chargent surtout les éléments du parenchyme. Ils ne contiennent jamais de microorganismes à ultrastructure intacte.

Parmi les organites cellulaires originels de la cellule végétale, seuls les chloroplastes persistent régulièrement et sous forme reconnaissable (Fig. 10). Leurs membranes apparaissent en 'négatif' dans une matrice plus transparente aux électrons que les produits de condensation signalés plus haut.

Des coupes réalisées dans des feuilles d'âges variables révèlent parfois une invasion fongique plus ou moins importante mais toujours sans effet apparent à ce stade sur les substances sombres. Comme conséquence de cette invasion fongique, certaines parois dans les tissus végétaux sont perforées, mais leur structure ne semble modifiée que très localement.

Des bactéries ayant pénétré dans les profondeurs de la feuille grâce aux filaments fongiques morts (Kilbertus et Reisinger 1975) ou à la faveur de ruptures mécaniques, donnent naissance à des colonies, surtout dans les échantillons les plus décomposés (les Figures 8, 9 et 11). Dans ce dernier cas, les colonies bactériennes sont fréquemment adjacentes à des hyphes vidées de leur contenu (Fig. 8). Comme dans tout matériel en début de décomposition, il existe de nombreux types micromorphologiques de procaryotes. Signalons ici celui qui se caractérise par l'accumulation de produits denses aux électrons dans l'enveloppe cellulaire (Fig. 11). La présence de colonies semblables a déjà été notée lors de la biodégradation des champignons (Reisinger et Kilbertus 1974; Harranger 1975; Harranger et al. 1977).

Zone intermédiaire et zone décolorée

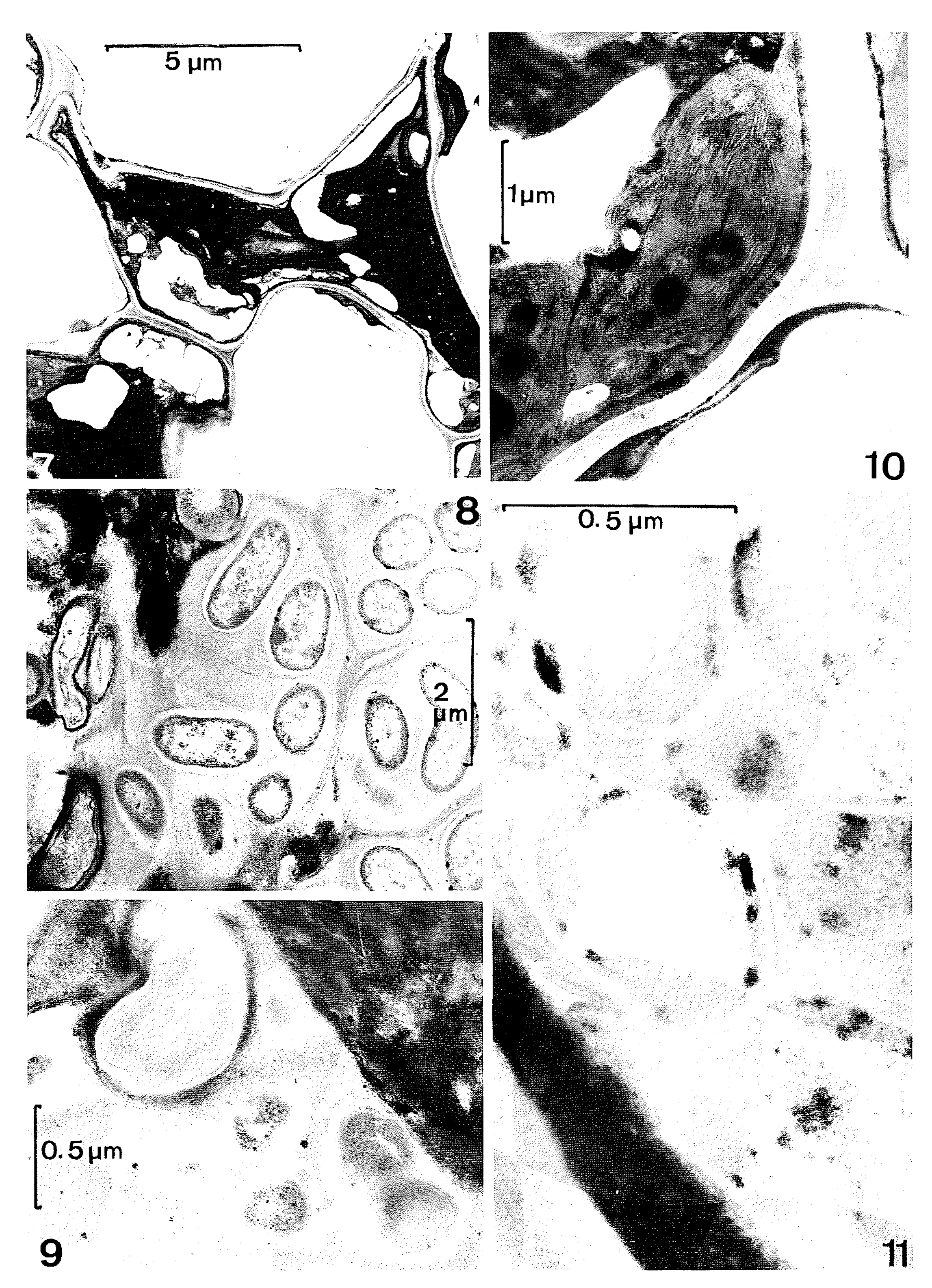
La zone intermédiaire, parfaitement distincte macroscopiquement, apparaît au niveau ultrastructural comme la juxtaposition de territoires intacts et modifiés. Les modifications sont souvent limitées à une sphère entourant l'apex des hyphes actives. En fait, c'est la zone d'attaque ou de début de décoloration et l'on peut y observer, côte à côte, des régions modifiées et d'autres non perturbées. Aussi décrirons-nous les altérations ultrastructurales dues à la pourriture blanche en prenant comme point de départ cette zone intermédiaire.

Les premières modifications notables de la partie brune sont dues à la pénétration d'une hyphe dans une cellule chargée de produits denses aux électrons (Fig. 12). L'étude sur coupes sériées de la structure de cette hyphe révèle, dans tous les cas, une organisation caractéristique des Basidiomycètes: on y retrouve en effet les dolipores (Fig. 15) et même les anses d'anastomose (Fig. 14).

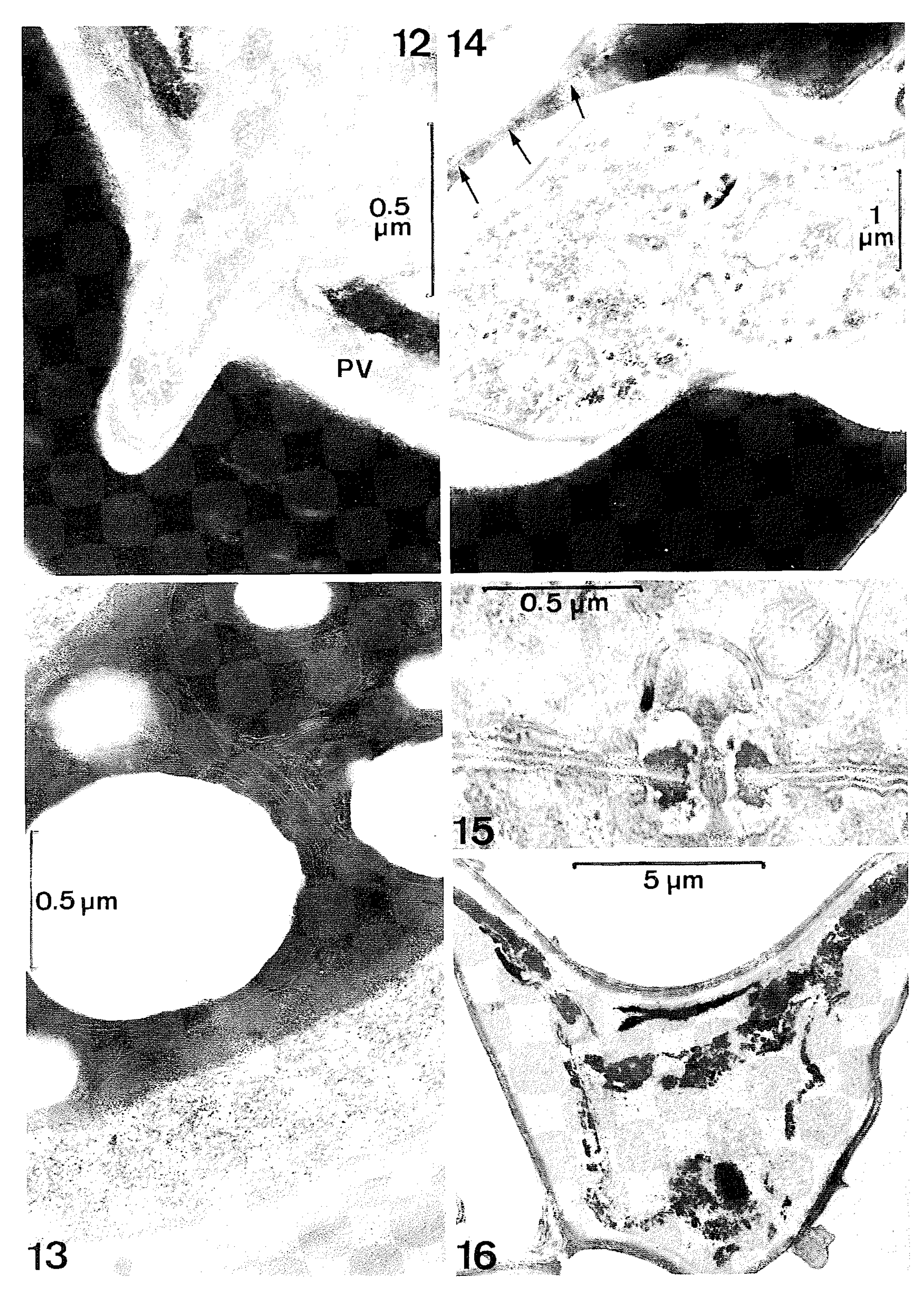
Le filament fongique perfore d'abord la paroi cellulosique, la traverse ensuite sans en modifier autrement la structure (Fig. 12). Ce champignon ne possède donc pas l'équipement enzymatique nécessaire à une cellulolyse importante, son activité paraissant limitée aux régions apicales de l'hyphe.

Après avoir pénétré dans la lumière cellulaire, il traverse la masse des produits sombres (Fig. 12) et l'auréole de lyse qui l'entoure augmente d'importance avec l'âge (Fig. 14). A ce stade on peut déjà noter une modification de la densité électronique du produit condensé (Fig. 14, flèches). Ce dernier perd en partie son opacité et laisse apparaître une sorte de charpente fondamentale granuleuse. Cet éclaircissement se poursuit progressivement (les Figures 17 et 18) et atteint même des régions apparemment dépourvues d'hyphes où ne persistent plus que des îlots encore denses aux électrons (Fig. 16). Le produit résiduel sera finalement constitué de granules de taille restreinte provenant de la fragmentation et de la décoloration partielle des produits condensés (les Figures 17, 18 et 20).

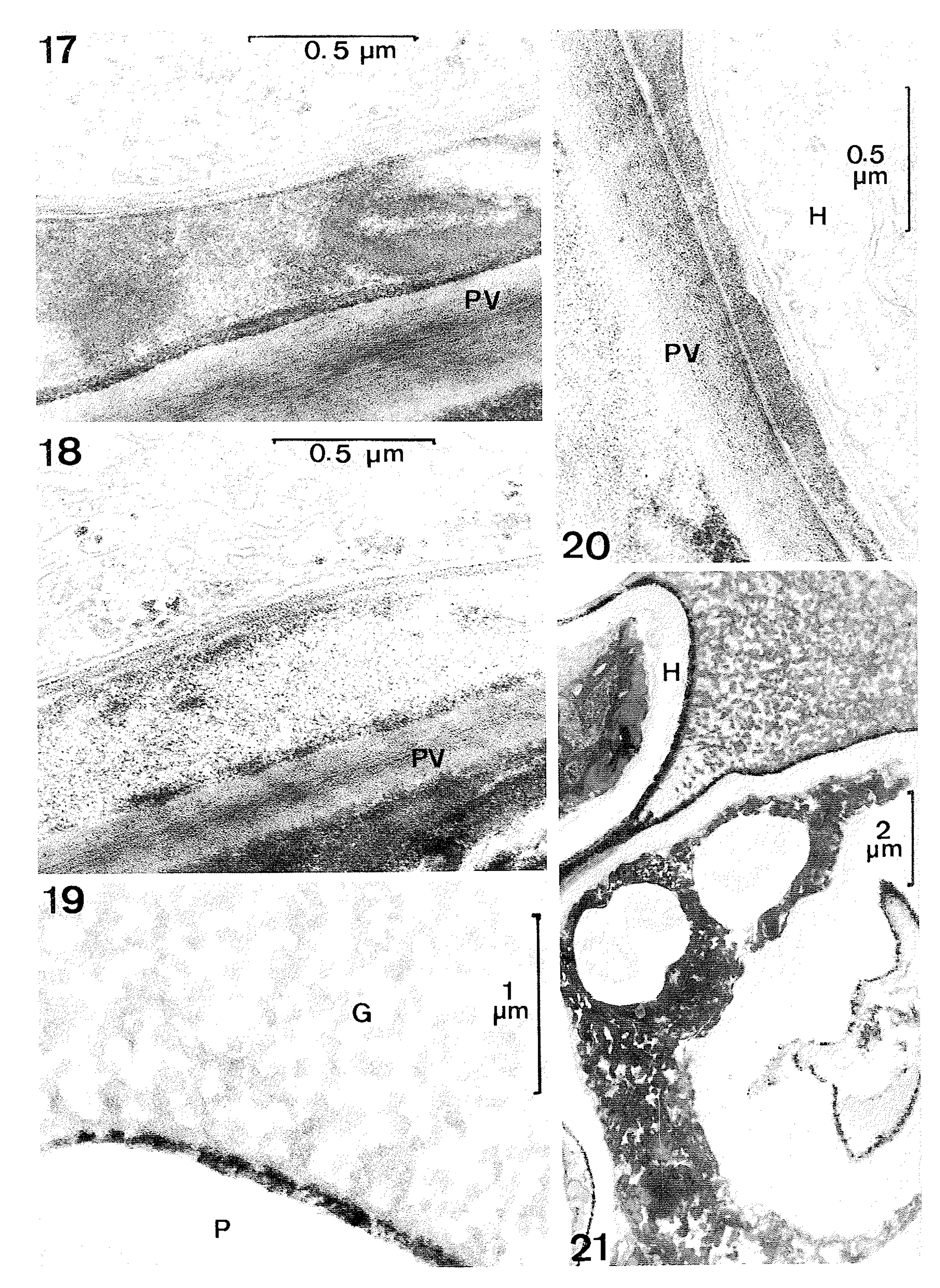
Pendant ce processus, les chloroplastes imprégnés restent encore peu modifiés; ils s'éclaircissent ensuite à leur tour et deviennent difficilement reconnaissables. Nous retrouvons donc ici aussi une persistance élevée de ces organites dont la résistance à la biodégradation a déjà été montrée dans plusieurs cas (Kilbertus et al. 1973; Pierre et al. 1974; Pierre 1975).



FIGURES 7–11. Parties brunes des feuilles (MET). Fig. 7. Parenchyme lacuneux avec des produits de condensation denses aux électrons. Figures 8 et 9. Colonies bactériennes se développant à l'intérieur des feuilles. Fig. 10. Chloroplaste reconnaissable dans la masse brune condensée. Fig. 11. Bactéries élaborant des substances denses aux électrons à l'intérieur des feuilles.



FIGURES 12–21. Parties intermédiaires et blanches des feuilles (MET). Fig. 12. Hyphe traversant la paroi cellulosique (PV) et s'insérant dans les produits sombres. Fig. 13. Aspect correspondant au début de la décoloration. Noter la persistence d'un chloroplaste imprégné. Fig. 14. Développement du mycélium et fragmentation des produits condensés. Anse d'anastomose caractéristique des Basidiomycètes. Fig. 15. Structure hyphale typique des Basidiomycètes (dolipore). Fig. 16. Fragmentation et décoloration progressive des produits de condensation même dans les endroits éloignés des hyphes. Figures 17 et 18.



Décoloration et transformation progressive en granules de taille restreinte des produits condensés autour des hyphes. Fig. 19. Lyse de la paroi mélanisée d'un champignon (P) dans la zone intermédiaire. Noter la libération massive des granules mélaniques (G) et la dilacération de la charpente fondamentale de l'enveloppe cellulaire fongique (P). Fig. 20. Modification légère de l'aspect strié de la paroi végétale cellulosique (PV) au contact direct d'une hyphe (H). Fig. 21. Hyphe lysée (H) au niveau de la zone intermédiaire.

Les seules modifications importantes de la paroi végétale lignifiée ou non sont donc uniquement des perforations dues au passage des hyphes (Fig. 12). L'enveloppe cellulaire, même proche des filaments fongiques conserve son ultrastructure fibrillaire initiale (les Figures 17 et 18) et n'accuse qu'un léger changement quand elle est étroitement appliquée contre l'hyphe. On notera dans ce cas (Fig. 20) la formation de minuscules granulations résultant peut-être d'un fractionnement enzymatique incomplet des fibrilles constitutives.

Parallèlement à ces changements ultrastructuraux du support végétal, les microorganismes colonisant les parties brunes (champignons, bactéries) subissent d'importantes altérations. Déjà dans les endroits peu décolorés de la zone intermédiaire, certains filaments fongiques élaborent des hyphes intrahyphales, signe évident d'un fonctionnement physiologique défectueux. D'autres subissent une lyse rapide avec désorganisation totale du cytoplasme (Fig. 21). Des granules mélaniques, caractéristiques de la biodégradation de beaucoup de champignons dématiés (Reisinger 1972; Reisinger et Kilbertus 1973, 1974; Harranger 1975) sont également libérés autour des cellules fongiques (les Figures 19 et 21). La partie hyaline de la paroi hyphale se dilacère à son tour et les fibrilles constitutives de la charpente fondamentale deviennent visibles (Fig. 19). Des modifications analogues ont pu être observées au cours de l'autolyse et reproduites *in vitro* par application ménagée de préparations enzymatiques à des parois fongiques purifiées (Berthe et al. 1976).

Les processus de lyse intéressent également les colonies bactériennes quel que soit leur type micromorphologique. La disparition des bactéries est beaucoup plus rapide que celle des champignons.

L'invasion de la partie brune de la feuille par le Basidiomycète se traduit donc par un effet antimicrobien démontré par MET, au sein des tissus.

Effet antimicrobien

L'activité antifongique et antibactérienne de quelques Hyménomycètes de la litière a été étudiée par Saito (Saito 1965) et avant lui par bien d'autres auteurs. Mais ces résultats obtenus par la technique classique de confrontation *in vitro* ne sont pas suffisamment probants pour que l'on soit en droit d'attribuer, à coup sûr, les phénomènes décrits plus haut à la production de substances antimicrobiennes par *C. butyracea*. Ces considérations et nos expériences préliminaires nous ont conduits à admettre que le principe actif n'est pas élaboré par le champignon seul, mais qu'il apparaît au cours de la dégradation de la feuille brune par le Basidiomycète. De plus, ces produits doivent être faiblement diffusibles et peut-être même non hydrosolubles.

Les résultats obtenus par les méthodes décrites précédemment ont montré que le mycélium isolé des fructifications de *C. butyracea* est capable de décolorer le milieu eau gélosée + feuille brune finement broyée. La suspension de microorganismes obtenue à partir de la litière fraîche est répandue sur ce milieu partiellement occupé par une culture en développement de *Collybia*. Après une incubation de 2 à 4 jours, un voile bactérien ne se développe que sur la partie encore brune du milieu. Les régions décolorées, occupées par la culture de *Collybia* restent dépourvues de toute colonie étrangère.

Il apparaît donc clairement que le développement du mycélium de *Collybia* sur des fragments de feuilles brunes aboutit à l'apparition d'un facteur de nature inconnue, ne diffusant pas dans la gélose, mais capable d'effet bactériostatique.

Conclusions

On sait que la décomposition des litières peut suivre deux modalités apparemment semblables à celles que l'on rencontre dans les bois pourrissants: la pourriture blanche ou la pourriture brune. L'étape essentielle conditionnant la pourriture blanche est l'intervention, dans les feuilles mortes, comme dans le bois, d'Hyménomycètes caractérisés classiquement (réaction de Bavendamm) par la production de laccases diffusibles — mais cette propriété n'est pas leur apanage exclusif — et de façon beaucoup plus fidèle par leur aptitude à décolorer le substrat, y compris certains milieux nutritifs courants comme la gélose à l'extrait de malt.

Nous ne connaissons pas les mécanismes biochimiques assurant cette décoloration, mais l'étude des modifications ultrastructurales permet d'affirmer qu'elle est distincte de la dégradation de la lignine. L'attaque des Basidiomycètes dits 'lignivores' se traduit en effet, sur les feuilles de Hêtre, par la décoloration et la fragmentation des produits denses aux électrons accumulés dans les cellules mortes, probablement à la suite d'une sorte de tannage du contenu cytoplasmique (Dommergues et Mangenot 1970). Contrairement à ce que l'on observe en étudiant au MET des bois atteints de pourriture blanche, les parois cellulaires ne semblent pas subir d'altérations notables, du moins pendant la durée de notre étude.

Cela n'est pas surprenant si, comme on l'a supposé (Dommergues et Mangenot 1970), les Hyménomycètes lignivores sont mieux adaptés à l'attaque du complexe ligno-cellulosique qu'à celle de la paroi pectocellulosique. Or les parois lignifiées

dans une feuille correspondent aux trachéides et aux fibres qui les accompagnent dans les grosses nervures.

Lors du déroulement de ces phénomènes d'altération sous l'effet indiscutable des hyphes d'un Basidiomycète, la population microbienne initialement présente à l'intérieur des feuilles subit l'effet d'un facteur létal.

La production d'antibiotiques par les champignons supérieurs a été souvent signalée (cf. par exemple Bianco et al. 1969). Mais la plupart des travaux ont été réalisés *in vitro* sur des milieux riches et ne permettent pas de préjuger des actions antagonistes *in situ*. Quelques études (Warcup 1951, Ohara et Hamada 1967, Couderchet 1967, *in* Dommergues et Mangenot 1970) ont montré l'appauvrissement de la microflore de sols envahis par les mycéliums d'Hyménomycètes, mais les mécanismes de cette action inhibitrice ne sont pas élucidés.

AHO, P. E., K. CROMACK, C. Y. LI et H. HUTCHINS. 1976. Concentrations of selected nutrients and oxalic acid in sound and decayed *Abies concola* wood. Proc. Northwest Sci. Assoc. **49**: 15 (abstract).

BERTHE, M. C., R. BONALY et O. REISINGER. 1976. Dégradation chimique et enzymatique des parois de *Helminthosporium speciferum*. Rôle protecteur des pigments. Can. J. Microbiol. **22**: 929–936.

BIANCO, M. A., J. C. SCURTI et V. F. MARCHISIO. 1969. Su alcuni Basidiomiceti lignicoli e di lettiera in relazione all'antibiosi. II. Attivita antibatteria dei miceli e dei liquidi di coltora. Allionia, **15**: 75–84.

CROMACK, K. JR., P. SULLINS, R. L. TODD, R. FOGEL, A. W. TODD, W. M. FENDER, M. E. CROSSLEY et D. A. CROSSLEY, JR. 1976. The role of oxalic acid and bicarbonate in calcium cycling by fungi and bacteria: some possible implications for soil animals. Proc. VI Int. Soil Sci. Soc., Soil Zoology Colloquium, Uppsala, Sweden. June 1976.

DOMMERGUES, Y., et F. MANGENOT. 1970. Ecologie microbienne du sol. Masson, Paris.

HARRANGER, M. F. 1975. Décomposition de *Pyrenochaeta lycopersici* dans le sol et les débris de racines. Etude ultrastructurale. Thèse de Spécialité. Biologie Végétale. Université de Nancy I.

HARRANGER, M. F., G. M. OLAH et O. REISINGER. 1977. Dégradation du mycélium de *Pyrenochaeta lycopersici* Schneider et Gerlach dans le sol. Etude ultrastructurale. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk. Infektionskr. Abt. 2, **132**: 423–433.

JACQUIN, F. 1963. Contribution à l'étude des processus de formation et d'évolution de divers composés humiques. Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Nancy I.

KICHKUTH, R., B. MEYER et H. J. SCHONEAU. 1969. Die divergierende Humus-Metabolik benachbarter Sauer-Braunerden und Rendzinen unter Wald im Licht organischer Stoffgruppen-Untersuchungen. Gött. Bodenkd. Ber. **8**: 1–61.

KILBERTUS, G., F. MANGENOT et O. REISINGER. 1973. Etude de la décomposition naturelle et expérimentale des feuilles de *Brachypodium pinnatum* P.B., Microécologie et micromorphologie électroniques. P.B.I., R.C.P. 40 Ecol. Sol, **3**: 152–193.

KILBERTUS, G., et O. REISINGER. 1975. Dégradation du matériel végétal. Activité *in vitro* et *in situ* de quelques microorganismes. Rev. Ecol. Biol. Sol, **12**: 363–374.

LEHMAN, H., B. MEYER et H. J. SCHONLAU. 1969. Die divergierende Humus-Metabolik benachbarter Sauer-Braunerden und Rendsinen unter Wald im Licht Standortsbiologischer Untersuchungen. Gött. Bodenkd. Ber. **9**: 1–63.

LINDBERG, G. 1946. On the decomposition of lignin and cellulose in litter caused by soil inhabiting Hymenomycetes. Ark. Bot. 33A, **10**: 1–16.

MANGENOT, F., et E. KIFFER. 1972. Pouvoir ligninolytique des sols de la R.C.P. 40. Rev. Ecol. Biol. Sol, **9**: 21–39.

OLAH, G. M., O. REISINGER et G. KILBERTUS. 1978. Biodégradation et humification. Atlas ultrastructural. Presses de l'Université Laval. Sous presse.

PIERRE, J. F. 1975. Etude au microscope électronique de la biodégradation de quelques algues par les bactéries. *In* Biodégradation et Humification. *Editeurs*: G. Kilbertus, O. Reisinger, A. Mourey et J. A. Cancela Da Fonseca. Pierron, Sarreguemines. pp. 195–201.

PIERRE, J. F., O. REISINGER et G. KILBERTUS. 1974. Observations biométriques et ultrastructurales des effets de la qualité d'un effluent d'une station d'épuration d'eaux industrielles sur la germination et la croissance du riz et sur les algues des rizières. Il Riso, **23**: 245–258.

REYNOLDS, E. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol. **17**: 208–212.

REISINGER, O. 1972. Contribution à l'étude ultrastructurale de l'appareil sporifère chez quelques Hyphomycètes à paroi mélanisée. Genèse, modification et décomposition. Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Nancy I.

REISINGER, O., et J. FARGUES. 1976. Procédé de conservation des microorganismes avec des argiles en vue de leur application agronomique. Brevet français no 7632722.

REISINGER, O., J. FARGUES, P. ROBERT et M. F. ARNOULD. 1977. Effet de l'argile sur la conservation des microorganismes. I. Etude ultrastructurale de la biodégradation dans le sol de l'Hyphomycète entomopathogène *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Ann. Microbiol. (Paris), **128 B**: 271–278.

REISINGER, O., et G. KILBERTUS. 1973. Biodégradation et humification. III. Libération des granules. Modèle expérimental en présence de bactéries. Conclusions générales. Soil Biol. Biochem. **5**: 187–192.

——— 1974. Biodégradation et humification. IV. Microorganismes intervenant dans la décomposition des cellules d'*Aureobasidium pullulans* (De Bary) Arnaud. Can. J. Microbiol. **20**: 299–306.

SAITO, T. 1965. Coactions between litter-decomposing Hymenomycetes and their associated microorganisms during decomposition of beech litter. Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ. Ser. 4: **31**: 255–273.

TOUTAIN, F. 1972. Etude comparée de deux Hêtraies sur grès rhétien: divergences pédoclimatiques et biochimiques. Bull. Ec. Nat. Super. Agron. Nancy. **14**: 103–116.

——— 1974. Etude écologique de l'humification dans les hêtraies acidiphiles. Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Nancy I.